

葛根の水溶性活性エキスの化学的並びに薬理学的研究

著者	中本 泰正
号	148
発行年	1976
URL	http://hdl.handle.net/10097/15311

論文内容要旨

古来、葛根は漢方処方の主薬の一つとして多用されており、その薬理学的並びに化学的研究も行われているが、大部分は解熱、鎮痙作用に関するものである。そして葛根の成分としては、脂溶性画分より isoflavonoid 類の daidzin 及び daidzein (柴田ら, 1959a) や puerarin 及び puerarin-glucoside (村上ら, 1960) が単離されており、その中の daidzein に鎮痙作用が報告されている (柴田ら, 1959b, 1960)。一方、三浦ら (1969) により葛根の水溶性画分に acetylcholine (ACh) 様作用があることが指摘されている。

本研究において、著者は葛根中の isoflavonoid 類や tannin 類を可及的に除去した水溶性抽出エキス (MTF-101 と呼称する) を調整し、解熱、鎮痙以外の作用を追求した。その結果、葛根に消化器系の刺激作用物質 (副交感神経刺激物質) が存在することが明らかとなり、その主成分の一つとして ACh を単離した。葛根に ACh が含有されていること及びその単離についての報告は未だ文献には見られないことである。その他に新たに 7 種の成分を単離した。次いで葛根中の種々の含有成分の共存下では ACh が安定化された状態となり、ChE や熱に対してきわめて大きな抵抗性を示すことが初めて明らかとなった。

なお、本研究において ACh を単離する過程で、従来アルカロイド沈澱試薬の一種として用いられているライネッケ塩が今まで全く予測されなかった新しい化学反応を生ずることが著者により見出された。

1. 葛根の水溶性活性エキスの調整と性状

1-1 活性エキス (MTF-101) の調整

葛根の水抽出液を炭末吸着法で吸着させた後 methanol で再溶出させ、methanol を留去して水で処理することにより一定の ACh 様作用 (標準 ACh chloride の約 1/1000 の力価) を有するアメ状物質 MTF-101 を得ることができた。(三浦, 中本ら, 1973)。

1-2 活性エキス (MTF-101) の性状

- ◎ 本エキスの 10% 水溶液は pH 3.5 - 4.5 である。
- ◎ 本エキス中の ACh 様物質及び choline の混合物としての含有量はライネッケ塩として定量することにより 0.8 - 1.0% である。
- ◎ ACh 様作用の力価はマウス摘出小腸を用いる Magnus 法で試験して MTF-101 (1×10^{-4} g/ml) の収縮高は標準 ACh (1×10^{-7} g/ml) に対して常に 80 - 110% にある。(中本ら, 1975a)。

2. 活性エキス (MTF-101) の薬理学的検討

2-1 消化器系に対する作用

消化器系に対する作用は、副交感神経の支配する一連の消化器系平滑筋臓器を刺激し、その運

動を亢進し筋の緊張を高める。従って、胃運動亢進に伴い消化を助け排便を促進する。またラットの胆汁、胃液等の消化液の分泌を亢進する。しかし、胃液分泌に伴う潰瘍発生には何ら影響を及ぼさない。ラット、イヌ、ウサギの生体内胃に対し明らかに胃の緊張上昇をきたし、胃運動の亢進が認められ、MTF-101は消化器系の賦活作用を有することを示している。(三浦、中本ら、1971)。

2-2 循環器、呼吸器に対する作用

循環器系、呼吸器系に対する作用は、一過性の血圧降下とわずかな呼吸興奮が認められた。また、心運動に対しては若干の抑制作用を示した。

2-3 末梢神経系に対しては、若干の縮瞳作用を認め、消化管以外の平滑筋臓器、子宮、膀胱、気管支を収縮する。また、かなり著明な利尿作用が認められた。

2-4 中枢神経系に対しては、自動運動、鎮静催眠作用、鎮痛作用及び体温に及ぼす影響は全く認められなかった。

2-5 血液に対しては、溶血作用、血液凝固阻止作用は認められなかった。

2-6 MTF-101のアナフィラキシー作用は、モルモットにおいて全く認められなかった。

2-7 MTF-101の作用点はatropineに対してのみ拮抗することから副交感神経末端に作用するmuscarine様の末梢性薬物である。

2-8 生体中のChEにより分解されるためMTF-101に蓄積性はない。(三浦、中本ら、1971)

3. 活性エキス(MTF-101)中の含有成分

MTF-101から、イオン交換樹脂、カラムクロマトグラフィ、酢酸鉛処理、ライネッケ塩処理など天然物化学の分離手法を用いて次の8種類の化合物を単離同定した。

1. Allantoin $C_4H_6O_3N_4$, mp 228° 2.8%
2. D-Mannitol $C_6H_{14}O_6$, mp 168° , $[\alpha]_D^{20} - 0.5^{\circ}$ (c=5, H_2O) 14.5%
(D-Mannitol が二晶形をとることを筆者が初めて見つけた)
3. D-(+)-Pinitol $C_7H_{14}O_6$, mp 186° $[\alpha]_D^{20} + 67.5^{\circ}$ (c=5, H_2O) 7.8%
4. Succinic acid $C_4H_6O_4$, mp 186° 9.5%
5. L-(+)-Mg lactate $\cdot 3H_2O$ $C_6H_{16}O_9Mg$, mp $> 300^{\circ}$ 15.6%
6. Choline chloride は choline-reineckate として単離 ca 1%
7. ACh chloride は ACh-reineckate として単離 ca 0.1%
8. 未知物質 reineckate, mp $> 300^{\circ}$ 0.05%

著者により初めてこれらの化合物が葛根から単離同定された。(中本ら、1975a)

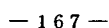
MTF-101と標準ACh chlorideの生物学的相違を比較するために choline-esterase (ChE) に対する分解速度、熱に対する安定性、生体小腸運動及び小腸内圧に及ぼす影響を比較検討した結果、胃液に対する安定性は両者に差がなかった。それ以外は、ChEに対する抵抗性も熱に対する安定性もMTF-101の方がACh chlorideよりはるかに安定であった。また、生体小腸運動及び内圧に対してもMTF-101の方がACh chlorideより数倍高い作用を示した。また、MTF-101からACh様作用物質を除去した母液に標準ACh chlorideを加えると、加えたACh chlorideは、ChEにも熱に対しても安定性が高まることが明らかとなった。(中本ら、1975b)。

5-1 Daidzin の単離

5-2 Daidzin と Daidzein の体温降下作用

5-3 Daidzin と Daidzein の鎮疼作用

6. 未知物質の Reinecke 塩の検討

$$2\text{CH}_3\text{COCH}_3 \xrightarrow{\text{dimerization}} \text{CH}_3\text{COCH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2 \xrightarrow[\text{(reinecke ion)}]{[\text{Cr}(\text{NH}_3)_2(\text{SCN})_4]^-}$$


ま と め

葛根中の水難溶性物質である isoflavonoid 類 (daidzin, daidzein 及び puerarin) や tannin 類を可及的に除去した水溶性活性エキス (MTF-101) は、標準 ACh chloride の 1/1000 の力価を持つアメ状物質である。本活性エキスは、摘出消化器に対する収縮作用が強く、また腸管輸送能や、生体胃運動に明らかな活性を示した。その他の循環器系、神経系にあまり作用を示さないことから、葛根には鎮痙作用や解熱作用以外に消化器系に対する刺激賦活作用があることが明らかになった。古来、食欲不振に対して葛根澱粉のカユを与えている事実との関連性が興味深い。

次に活性エキス (MTF-101) 中の含有成分を検討したところ、ACh chloride (ca. 0.1%), choline chloride (Ca. 1%), allantoin (Ca. 3%), D-mannitol (ca. 15%), D-(+)-pinitol (Ca. 8%), succinic acid (Ca. 10%), L-(+)-Mg lactate (ca. 15%) が単離された。その他は未知物質である。ここで消化器刺激作用物質として ACh が葛根より初めて単離された。次いで、ACh が MTF-101 の有効成分であることが判明したので、MTF-101 と標準 ACh chloride の生物学的相違を比較検討した。その結果、MTF-101 が ACh chloride よりも ChE や熱に対してはるかに安定であることがわかった。すなわち MTF-101 から ACh 類を除去した back ground 中に ACh を ChE や熱に対して安定化させている種々の物質が存在していることが推察される。従って、MTF-101 は ACh の安定化剤の性質も有しているといえる。

次に ACh を reineckate として単離した際に未知物質の reineckate も得られたのでこのものの構造解明を行った。この未知物質は、choline や ACh を acetone 中で ammonium Reineckate と処理している間に副生するもので diacetoneamine であることが判明した。この際の副生反応は、従来予想されなかった新しい反応機構で進むことが著者により明らかにされた。

また、MTF-101 中の体温降下並びに鎮痙作用物質の検討を行ったところ、MTF-101 より少量の daidzin (isoflavonoid の一種で daidzein-7-glucoside) を取り出すことができたが、daidzin にはこれらの作用はほとんどなく、その aglycon である daidzein に papaverine の約 1/3 の強さの鎮痙作用が認められた。

審 査 結 果 の 要 旨

「葛根湯」など漢方処方の主薬として多用される葛根は、現在まだその成分と効力との関連性については究明されていない。本研究はこの目的で葛根のイソフラボンやタンニン類を除去した水溶性抽出エキスを調製してその薬理作用を検討して、漢方としての用途との関連を追求したものである。

1. 葛根の水溶性活性エキスの調整と性状

葛根の水抽出液を炭末吸着法で吸着させた後、methanolで再溶出させ、methanolを留去して水で処理することにより一定のACh様作用（標準ACh chlorideの約1/1000の力価）を有するアメ状物質を得ることができた。

- 1) 本エキスの10%水溶液はpH 3.5 - 4.5である。
- 2) 本エキス中のACh様物質及びcholineの混合物としての含有量はライネッケ塩として定量することにより0.8 - 1.0%である。
- 3) ACh様作用の力価はマウス摘出小腸を用いるMagnus法で試験して本エキス (1×10^{-4} g/ml) の収縮高は標準ACh (1×10^{-7} g/ml) に対して常に80 - 110%にある。

2. 活性エキスの薬理的検討

消化器系に対する作用は、副交感神経の支配する一連の消化器系平滑臓器を刺激し、その運動を亢進し筋の緊張を高める。従って、胃運動亢進に伴い消化を助け排便を促進する。またラットの胆汁、胃液等の消化液の分泌を亢進する。しかし、胃液分泌に伴う潰瘍発生には何ら影響を及ぼさない。ラット、イヌ、ウサギの生体内胃に対し明らかに胃の緊張上昇をきたし、胃運動の亢進が認められ、本エキスは消化器系の賦活作用を有することを示している。また循環器系、呼吸器系に対する作用は、一過性の血圧降下とわずかな呼吸興奮が認められ、心運動に対しては若干の抑制作用を示した。末梢神経系に対しては、若干の縮腫作用を認め、消化管以外の平滑筋臓器、子宮、膀胱、気管支を収縮する。本物質の作用点はatropineに対してのみ拮抗することから副交感神経末端に作用するmuscarine様の末梢性薬物である。

3. 活性エキス中の含有成分

イオン交換樹脂、カラムクロマトグラフィ、酢酸鉛処理、ライネッケ塩処理など天然物化学の分離手法を用いて次の8種類の化合物を単離同定した。1) allantoin (2.8%) 2) D-mannitol (14.5%) 3) D-(+)-pinitol (7.8%) 4) succinic acid (9.5%) 5) L-(+)-Mg lactate, 3H₂O (15.6%) 6) choline chlorideはcholine-Reineckateとして単離(約1%) 7) ACh-chlorideはACh-Reineckateとして単離(約0.1%) 8) 未知物質Reineckate, mp 300° (0.05%)。

4. 活性エキスと標準AChの生物学的相違

活性エキスと標準ACh chlorideの生物学的相違を比較するため cholinesterase (ChE) に対する分解速度、熱に対する安定性、生体小腸運動及び小腸に及ぼす影響を比較検討したところ、ろはるかに安定であった。

5. 活性エキスからDaidzinの単離並びに体温降下作用及び鎮痙作用

Daidzinとdaidzeinの体温降下作用と鎮痙作用を検討したところ、何ら作用はみられなかった。

以上から葛根の活性成分としてアセチルコリンおよびコリン様物質が得られ、この副交感神経興奮作用が薬効に関与しうることを示唆したものである。

有意義な知見を含み学位論文に値するものと認める。